LA DENSITÉ DES DIATOMÉES BENTHIQUES
Une nouvelle méthode de mesure (Vitesses différentielles)

Jean BERTRAND

42, rue de Malvoisine, 45800 Saint-Jean-de-Braye, France.

RÉSUMÉ - La mesure de la densité des diatomées pose un problème délicat à résoudre. Malgré trois méthodes de mesure existantes, onze densités de diatomées planctoniques étaient connues à ce jour mais aucune concernant les diatomées benthiques. Il est appliqué ici une nouvelle méthode qui utilise les propriétés de l'équation de Stokes en mesurant optiquement la vitesse de chute des diatomées dans des liquides de densité progressive. Puis, à l'aide des valeurs relevées, fonction de la densité des liquides, par un calcul statistique on ajuste une droite de régression qui permet de calculer la densité de la diatomée. Cette nouvelle méthode, complémentaire de celles existantes, a permis de mesurer la densité de 39 espèces de diatomées benthiques, réparties dans 23 genres, dont les densités s'échelonnent de 1,150 g cm^{-3} à 1,920 g cm^{-3}.

ABSTRACT - Diatoms density brings up a difficult problem to be solved. Despite the three existing methods of measurement, eleven densities of planktonic diatoms were known up to now but none of benthic diatoms. We are applying here a new method based on Stokes equation. We measure obliquely the speed of falling diatoms within progressive density liquids. Then, thanks to the values noted and function of the liquids'density, though statistical computation, a regression line is set which enables us to calculate the density of the diatom. Thanks to this new method, complementary to the existing ones, we could measure 35 species of benthic diatoms, covering 23 genus, the density of which are spread from 1.150 g cm^{-3} to 1.920 g cm^{-3}.

MOTS CLÉS : Bacillariophycées, diatomées, méthodes, mesure, densité.

INTRODUCTION

Que ce soit dans l'évaluation de la biomasse du phytoplancton, du périphyton et des forces développées par les diatomées lors de leurs mouvements, il est indispensable de connaître la masse des organismes constitutifs. Or cette masse est très difficile à estimer car elle est fonction de la densité et celle-ci, élément primordial du calcul des forces, n'a jamais été déterminée, à notre connaissance, pour les diatomées benthiques. Cependant, de très importants travaux ont été réalisés pour comprendre les mouvements d'ensemble du phytoplancton (Smayda & Boleyn, 1965, 1966b; Smayda, 1970; Walsby & Reynolds, 1980; Reynolds, 1984) pour ne citer que les plus récents. Dans ces études, le problème de la densité des organismes du phytoplancton a été abordé incluant quelques diatomées planctoniques ou considérées comme telles. "La densité d'un organisme vivant est la résultante de la densité de ses composants; ainsi, les diatomées sont composées d'un frustule de silice de densité stable de 2,3 g cm^{-3}, mais aussi d'éléments de matière organique vivante en proportion variable d'une espèce

Source : MNHN, Paris

à l'autre et variable dans le temps suivant le rythme biologique de la cellule. Par exemple, des constituants cellulaires comme les lipides (d = 0,895 g cm^{-3} sont plus légers que l'eau et leur production en grande quantité, liée à certaines conditions physico-chimiques du milieu, entraîne un allègement de la cellule. Par contre, la sénescence crée des polyphosphates (d = 2,5 g cm^{-3}) qui provoquent un alourdissement" (Reynolds, 1984). Par ailleurs, les mouvements ascensionnels ou de chute provoqués par allègement ou alourdissement sont relatifs et fonction de la densité et de la viscosité du milieu, lesquelles sont corrélées le plus souvent à la température de l'eau.

Tous ces paramètres sont reliés dans l'équation de Stokes qui définit la vitesse de chute d'un corps théorique en fonction de ses dimensions, sa forme, sa densité, de la densité et de la viscosité du milieu.

Trois méthodes de mesure de densité ont été imaginées dont deux à partir de l'équation de Stokes. Walsby & Reynolds (1984) nous les rappellent et soulignent qu'aucune ne donne des résultats satisfaisants car certains paramètres ne peuvent être déterminés avec précision. Ainsi, dans la méthode gravimétrique (Walsby & Xypolyta, 1977) ce sont les interstices résiduels (comblés ou non par du mucus) entre les diatomées, comprimées dans un bloc de dimensions extérieures déterminées, qui créent une incertitude quand au volume réel des diatomées contenues dans le bloc. Dans la méthode des gradients de densité (Hutchinson, 1967; Conway & Trainor, 1977; Oliver *et al.*, 1981) le temps de centrifugation est le facteur d'imprécision, car on ne peut connaître avec certitude le moment où l'équilibre hydrostatique est atteint, donc la densité. Enfin, la méthode utilisant directement l'équation de Stokes par le calcul (Einsele & Grimm, 1938) pour *Fragilaria crotonensis* en mesurant la vitesse de chute, est imprécise car elle impose d'introduire le coefficient de forme Ø, variable suivant la position de la diatomée lors de la chute et que l'on ne peut déterminer qu'expérimentalement. De nombreux travaux (Wisman & Reynolds, 1981; Jaworski *et al.*, 1984) ont été réalisés afin de déterminer une méthode de calcul du coefficient ϕ notamment pour *Asterionella formosa*.

De plus, dans les méthodes gravimétriques et des gradients de densité on a l'obligation de travailler avec un grand volume de diatomées issues de cultures pures. Enfin, avec les gradients de densité, on ne peut aborder que les diatomées planctoniques en raison de la faible densité des milieux tests (Ficoll ou Percoll) qui n'excède pas 1,130 g cm^{-3}. Ainsi, c'est probablement en raison de toutes ces difficultés que les densités de 11 espèces seulement étaient connues à ce jour (Reynolds, 1984, tab. 8, p. 57).

La méthode qui sera exposée ici, et qui a permis la mesure de densité de 39 espèces contenues dans 23 genres, utilise toutes les propriétés de l'équation de Stokes. Cette nouvelle méthode présente trois avantages: le premier et principal étant la possibilité de mesurer la densité des diatomées benthiques, le deuxième une relative rapidité d'exécution (1 heure maximum par espèce) et le troisième, l'utilisation d'un très faible nombre de diatomées (40 à 50 en moyenne par espèce) qui peuvent, de ce fait, être prélevées dans leur milieu naturel, pourvu qu'elles soient dominantes et facilement identifiables à faible grossissement.

Par contre, la vitesse de chute doit faire l'objet d'un protocole strict et d'une grande attention pour être considérée comme fiable. D'autre part, cette méthode n'est applicable qu'à des espèces dont la masse est suffisante pour engendrer une vitesse de chute appréciable.

Source : MNHN, Paris

MÉTHODE - MATÉRIEL

Méthode

Le principe de la méthode décrite plus loin est tiré de l'analyse de l'équation de Stokes qui donne la vitesse de chute d'un corps théorique dans un liquide en fonction de plusieurs paramètres:

$$Vs = 2\, r^2\, G\, (\rho' - \rho)\, /\, 9\eta\phi$$

dans laquelle Vs = vitesse de chute du corps; r = rayon du corps théorique; G = attraction de la gravitation; ρ' = densité du corps; ρ = densité du liquide; η = viscosité du liquide; ϕ = coefficient de forme du corps s'il n'est pas sphérique.

Cette équation définit en particulier que la vitesse de chute est proportionnelle à l'écart entre la densité du corps (ρ') et celle du liquide (ρ), donc que l'équilibre hydrostatique est atteint (Vs = 0) lorsque la densité du corps égale celle du liquide ($\rho' - \rho = 0$).

La méthode consiste à mesurer optiquement la vitesse de chute des diatomées dans des liquides de densité progressive par rapport à l'eau jusqu'à l'obtention approximative de l'équilibre hydrostatique. Ces vitesses corrigées par l'indice de viscosité des liquides employés sont les valeurs prises par une équation dont la courbe représentative est une droite. Du fait de la dispersion des résultats, une droite de régression linéaire est calculée à partir des vitesses relevées en fonction des densités données permettant le calcul de la densité de la diatomée. En effet, l'équation de Stockes peut s'écrire également sous la forme suivante:

$$Vs = \frac{2\, r^2\, G}{9\phi} \times \frac{(\rho' - \rho)}{\eta}$$

or, dans le cas où nous mesurons les vitesses de chute de la même espèce de diatomée dans différents liquides, on peut considérer le terme $2r^2\, G/9\phi$ comme une constante que l'on remplace par A; on obtient: $Vs = A\, (\rho' - \rho)/\eta$ qui peut s'écrire également $Vs\eta = -A\rho + A\rho'$ lorsque l'on prend la densité du liquide (ρ) comme variable. D'autre part, si l'on fait $\eta = 1$ (viscosité de l'eau) l'équation devient $Vs = -A\rho + A\rho'$ qui est une fonction décroissante de la forme $y = ax + b$ représentée par une droite dont le coefficient "a" détermine la pente.

En application, il a été confectionné une série de liquides tests par dilution dans l'eau d'un liquide de densité 1,84 g cm^{-3} et de viscosité η = 2,45 Engler (par rapport à l'eau = 1); corrélativement, l'indice de viscosité de ces solutions a été mesuré (Fig. 1).

Pour les mesures, la série suivante de liquides tests a été adoptée:

d(g cm^{-3})	1,000	1,050	1,130	1,250	1,410	1,570	1,670
η Engler	1,000	1,000	1,050	1,130	1,325	1,625	1,925

Pour chaque espèce de diatomée, dans chaque solution test, il a été relevé optiquement 10 mesures de temps de chute, pour une hauteur de 200 µm jusqu' à l'obtention d'un temps voisin de 60 secondes, ceci indiquant que l'on tend vers l'équilibre hydrostatique et que la densité de la diatomée est proche de celle du test. Le facteur de réaction personnel et les écarts de vitesse sont éliminés en effectuant la moyenne des temps de chaque test. La vitesse de chute pour chaque liquide test est calculée en

Source : MNHN, Paris

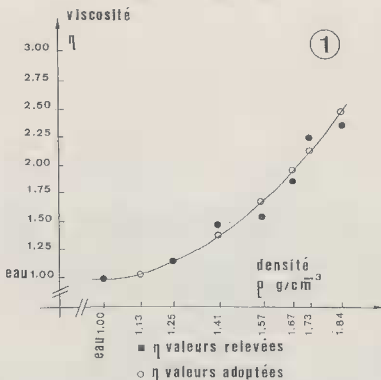


Fig. 1: Courbe de viscosité de $SO_4H_2 + H_2O$ en fonction de la densité.

faisant 200/t = $V_{1/\eta n}$ en µm s^{-1}. Toutefois ces vitesses calculées sont fonction de la viscosité des liquides tests et la viscosité égale à 1 (eau) est obtenue en faisant $V_{\eta d} \times \eta_d = V_{\eta 1}$. On calcule ensuite une droite de régression linéaire des d_1 - d_2 - d_3 - d_n fonctions des V_1 - V_2 - V_3 - V_n et la densité de la diatomée s'obtient en faisant (sur la calculatrice): $V_{\eta 1} = 0$; celui de la vitesse moyenne $V_{\eta 1}$ dans l'eau en faisant d = 1. Pour contrôle on trace ensuite la droite de régression (Fig. 2).

Il n'est pas nécessaire de calculer l'équation de la droite de régression car celle-ci varie avec chaque espèce et avec chaque position spatiale lors de la chute de la diatomée. Le calcul de corrélation n'est pas significatif car il porte sur un nombre restreint de valeurs, cependant il ne doit jamais être inférieur à 0,9, ce qui indiquerait des erreurs de mesures ou de données. Tous ces calculs s'effectuent rapidement sur une calculatrice scientifique ayant en mémoire les fonctions statistiques.

Après avoir vérifié l'absence de variation de la vitesse de chute sur *Gomphoneis minuta*, grâce à la constance d'orientation spatiale de cette espèce dans l'eau (écart de vitesse sur 10 mm = + 1,03 %), nous avons testé trois conditions impératives:

Source : MNHN, Paris

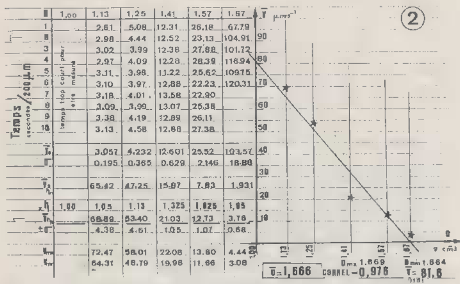


Fig. 2: Droite de régression ajustée aux valeurs moyennes relevées, des vitesses de chute dans des liquides tests de densité croissante, pour *Cymbella ehrenbergii*, permettant de calculer D moy. lorsque V = 0 et η = 1.

La précision et la répétitivité de la méthode ont été mesurées en comparant 10 séries de 35 mesures consistant à mélanger suivant diverses combinaisons (Tab. I) les positions verticales ou horizontales de *Navicula radiosa* lors de leurs chutes, les résultats indiquent une densité moyenne de 1,444 g cm^{-3} avec un écart type de 1,33 % et un écart maximum de 2,15 %.

La généralisation a été testée en prenant 5 liquides quelconques, miscibles dans l'eau, de densité et viscosité différentes (Tab. II). La densité de *N. radiosa* a été trouvée à 1,483 g cm^{-3}, soit un écart de + 2,69 % par rapport à la moyenne.

La validité a été contrôlée en comparant nos résultats avec ceux acquis précédemment par divers auteurs (Tab. III); là encore, l'écart ne dépasse pas 10,3 % pour *Tabellaria flocculosa* et 10,9 % pour *Fragilaria crotonensis*. Ces deux valeurs méritent notre attention car le coefficient de corrélation pour ces deux espèces est de 0,997, ce qui indique une excellente relation vitesses de chute/densités et permet de croire à la fiabilité des résultats. Mais alors, pourquoi cette différence avec les résultats de Reynolds ? La densité de ces diatomées ne serait-elle pas à la limite supérieure des possibilités de la méthode des gradients (limite de densité maxi 1,145 avec percoll en solution saline - Laboratoire Pharmacia) conduisant ainsi à des difficultés de lecture. Par ailleurs, il semble bien que la méthode des vitesses différentielles commence à être applicable avec certitude à partir de 1,200 g cm^{-3} ce qui expliquerait les écarts toujours positifs observés. Pour les mesures de vitesse de chute, les précautions suivantes

Source : MNHN, Paris

N° TEST	POSITION	DENSITE G CM^{-3}	σ	ECART/D
1	1V - 1,13V - 1,25V - 1,41V	1,467	0,010	+ 1,59 %
2	1H - 1,13H - 1,25H - 1,41 H	1,421	0,005	- 1,57 %
3	1H - 1,13H - 1,25H - 1,41H	1,444	0,006	0
4	1V - 1,13V - 1,25V - 1,41V	1,445	0,016	0
5	H et V alternativement	1,441	0,017	- 0,20 %
6	V et H alternativement	1,433	0,022	- 0,76 %
7	1H - 1,13V - 1,25H - 1,41V	1,440	0,042	- 0,20 %
8	1V - 1,13H - 1,25V - 1,41H	1,453	0,029	+ 0,60 %
9	1H - 1,13H - 1,25V - 1,41V	1,484	0,037	+ 2,14 %
10	1V - 1,13V - 1,25H - 1,41 H	1,422	0,031	- 1,52 %
	D.....	1,4449	0,019	+ 1,33 %

Tableau I: Influence des écarts de vitesse dus à la position au cours des mesures de *Navicula radiosa* pour l'obtention de la densité. On note dans la 2ème colonne: V = position verticale, H = position horizontale. Les valeurs 1 - 1,13 - 1,25 - 1,41 sont les densités des liquides tests.

LIQUIDES	d.g cm^{-3} obtenue	η (E)
Alcool 90° + H_2O	0,850	1,065
Glycol + H_2O + Alcool	1,030	1,195
Saccharose + H_2O	1,160	1,190
Glycérine + H_2O	1,200	4,220
SO_4H_2 + H_2O	1,410	1,325

Tableau II: Série de liquides tests pour le contrôle de la méthode. Inconvénients de ceux-ci: - Alcool: tension de vapeur trop élevée, courant de convection; - Glycérine - Saccharose - Glycol: viscosité trop élevée, densité maximale trop faible; - SO_4H_2: pH trop bas, agressivité, dilution dans l'eau délicate. Avantage de SO_4H_2: densité et viscosité acceptable, tension de vapeur = 0.

ont été adoptées: a) remplir lentement le réservoir en position verticale avec le liquide test choisi, à l'aide d'une seringue hypodermique et attendre 5 minutes l'arrêt des courants de convection; b) déposer à la surface libre du réservoir une microgoutte de diatomées fixées et lavées soigneusement en suspension dans l'eau; ne pas homogénéiser; comme l'a montré Reynolds (1984 fig. 17, page 55) il est indispensable de travailler sur des organismes fixés car le métabolisme peut faire varier rapidement la vitesse de chute, donc la densité; d'autre part, les diatomées raphidées vivantes se collent immédiatement sur les parois dès lors qu'elles s'en approchent; c) installer le réservoir, en position verticale, sur la platine du microscope en visant au-dessous de la surface libre et rechercher le passage des diatomées; d) mesurer les temps de passages pour la base choisie (dans notre cas 200 µm) et enregistrer les résultats lorsque la vitesse est stabilisée (si la préparation est agitée par des courants de convection, la recommencer); e) il est indispensable d'effectuer les mesures de temps de chute dans un

Source : MNHN, Paris

ESPECES	NOMBRE DE MESURES	DENSITE g cm³	METHODE	REFERENCE	Δ (4)/(1)
Asterionella formosa	1	1,130	Gravimétrique	(1)	
Asterionella formosa	60	1,160 - 1,170	Vitesses différentielles	(4)	+ 3,09 %
Cyclotella meneghiniana	1	1,020 - 1,200	Gradient centrifugation	(3)	
Cyclotella meneghiniana	30	1,130 - 1,140	Vitesses différentielles	(4)	+ 2,25 %
Synedra acus	1	1,070 - 1,135	Gravimétrique	(1)	
Synedra acus	30	1,150 1,170	Vitesses différentielles	(4)	+ 5,26 %
Synedra acus	8	1,090 - 1,140	Gradient centrifugation	(1)	
Fragilaria crotonensis	1	1,183 - 1,209	Gradient centrifugation	(1)	
Fragilaria crotonensis	2	1,100 1,230	Gravimétrique	(1)	
Fragilaria crotonensis	?	1 100 1,465	Calcul	(2)	
Fragilaria crotonensis	80	1,415 1,425	Vitesse différentielle	(4)	+ 10,9 %
Stephanodiscus astraea	5	1,080 - 1,105	Gravimétrique	(1)	
Stephanodiscus astraea	25	1,150 1,160	Vitesses différentielles	(4)	+ 5,96 %
Tabellaria flocculosa	?	1,130 - 1,155	Gradient centrifugation	(1)	
Tabellaria flocculosa	50	1 185 1 335	Vitesses différentielles	(4)	+ 10,30 %

Tableau III: Comparaison avec les auteurs précédents. (1) Reynolds (1984) - (2) Einsel & Grim (1938) - (3) Oliver *et al.* (1981) - (4) Bertrand (1992)

minimum de 3 liquides tests, 5 seraient optimal pour obtenir une droite de régression et des résultats sans équivoque; toutefois, il n'est pas souhaitable de mesurer des temps de chute inférieur à 2 secondes par 200 µm car l'écart type devient supérieur à la moyenne sauf si l'on possède un système électronique de prise de mesure de temps; d'autre part, il n'est pas nécessaire de dépasser 60 secondes par 200 µm de temps de chute car alors, les phénomènes de convection lente dominent et faussent les résultats; f) il est important de mesurer les vitesses de chute en utilisant des diatomées dans une même espèce, ayant la même taille pour éviter la dispersion des vitesses d'une densité test à l'autre; pour bien maîtriser cette mesure de vitesse, on pourra consulter utilement les travaux de Jaworsky *et al.* (1988) qui définissent avec précision les variations en fonction de plusieurs paramètres: densité, poids, surface, etc... pour des cellules à divers stades de leur évolution biologique.

Matériel

Le matériel vivant a été récolté dans la nature aux environs d'Orléans, de Cherbourg et de Briançon (France). Il a été fixé immédiatement au Semichon (Alcool 70° = 90 % - Formol = 7 % - Acide acétique = 3 %) et ensuite lavé abondamment au moment de l'emploi. La détermination des espèces fixées a été réalisée d'après les travaux de Krammer & Lange-Bertalot (1986, 1988, 1991a et b). Lors de la chute, cette détermination est délicate et ne peut être faite que sur des espèces aisément reconnaissables. Le problème est identique a celui rencontré pour la mesure des vitesses (Bertrand, 1990). Le microscope utilisé est un appareil dont l'ensemble, platine et objectif, peut basculer de 90° de manière à orienter la platine verticalement. L'oculaire est remplacé par un capteur d'images vidéo CCD en liaison avec un écran de contrôle (Fig. 3) sur lequel une grille graduée a été adaptée (Fig. 4). En outre, le système d'éclairage a été muni d'un filtre anticalorique Kodak 301A absorbant les IR courants pour stabiliser la température et éviter les courants de convection thermique. Toutes les observations ont été exécutées à température constante de 20° C, avec un objectif à sec X 10 donnant un grossissement de X 350 sur l'écran. Un réservoir de mesure a été fabriqué (Fig. 5) à l'aide de lames de verre standard d'observation collées permettant un montage facile sur la platine. Le volume libre mesure 14 mm de hauteur, 14 mm

Source : MNHN, Paris



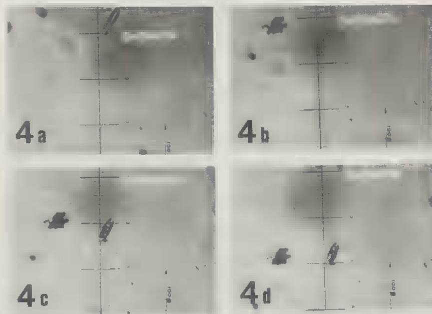


Fig. 3: Installation du poste de travail pour les mesures de vitesse de chute des diatomées, a) microscope avec la platine verticale, b) capteur d'image, c) écran de contrôle et de mesure.

Fig. 4: Grille graduée sur écran de contrôle permettant la mesure du temps de chute 4 a - b - c - d; *Pinnularia gibba* chute dans d = 1,41 g cm^{-3}.

Source : MNHN, Paris

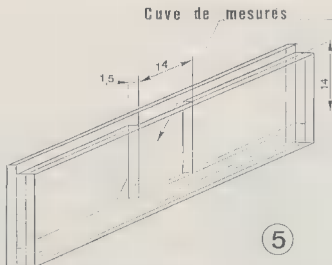


Fig. 5: Réservoir vertical de mesure de vitesse de chute des diatomées.

de largeur, 1,5 mm d'épaisseur pour éviter les effets de capillarité. Il est ouvert sur un bord. Le microscope a été muni d'un chronomètre au 0,01 seconde relié par un déclencheur souple à la commande du chariot. Les calculs statistiques ont été effectués sur calculatrice CASIO FX 180PV.

RÉSULTATS

Les résultats consignés dans le Tableau IV appellent trois remarques. Tout d'abord il serait prématuré d'adopter ces valeurs sans une confrontation avec les résultats d'autres méthodes. Nous y reviendrons. Ensuite, le nombre d'espèces ayant été mesurées est relativement faible et ne permet aucune analyse comparative sérieuse qui permettrait de dégager, par exemple, une loi de la densité en fonction du volume par espèces et par genres. Enfin, les valeurs relevées doivent être considérées comme des ordres de grandeur car la variabilité de chaque espèce peut certainement entraîner également des variations de densité.

Toutefois, quelques points particuliers méritent attention et montrent des tendances. Ainsi, la densité des diatomées benthiques s'étendrait de 1,3 à 1,9 g cm^{-3}.

La dispersion de la densité à l'intérieur des genres semble assez grande. Par exemple, chez *Synedra* elle irait de 1,100 g cm^{-3}, avec *S. acus* considérée comme planctonique, jusqu' à 1,640 g cm^{-3} pour *F. capucina*. De même pour le genre *Nitzschia: N. acicularis* posséderait les caractéristiques des diatomées planctoniques, alors que *N. sigmoidea*, la plus grande mesurée, atteindrait 1,620 g cm^{-3}. Quant [redacted] genre *Navicula* on note une relative constante (d = 1,465 g cm^{-3} - écart type de 5 %) pour les espèces moyennes à grandes. Il aurait été souhaitable de posséder les résultats de plus de trois *Pinnularia*, mais celles-ci semblent révélatrices de la grande densité des espèces du

Source : MNHN, Paris

Especes	**D** ■ cm^{-3}	**Vs** $\mu m\, s^{-1}$
Amphora ovalis Kützing	1,580 - 1,590 ■	45,38
Amphora veneta Kützing	1,255 -1,265	5,70
Asterionella formosa Hassall	1,160 - 1,170	7,19
Ceratoneis arcus Ehrenberg	1,275 - 1,315	16,22
Cocconeis pediculus Ehrenberg	1,390 - 1,400	33,76
Cymatopleura solea (Bre.) Smith B	1,690 - 1,710 B	35,52
Cymbella caespitosa (Kütz) Brun	1,390 - 1,420	12,71
Cymbella cistula (Ehr) Kirchner	1,410 - 1,450	27,45
Cymbela ehrenbergii Kützing	1,650 - 1,670 B	81,60
Diatoma vulgaris Bory	1,595 - 1,645	17,56
Entomoneis alata (Ehr) Ehrenberg	1,550 - 1,610	38,26
Fragilaria ulna v; acus (Kütz) Lange-Bertalot	1,150 - 1,170	8,94
Fragilaria ulna (Nitzsch) Lange-Bertalot	1,410 - 1,480	24,44
Fragilaria capucina Desmazières	1,600 - 1,640	33,40
Fragilaria crotonensis Kitton	1,415 - 1,425	22,71
Fragilaria pulchella (Ralfs) Lange-Bertalot	1,540 - 1,560	18,84
Gomphoneis minuta Stone	1,540 - 1,560 B	47,91
Gomphonema olivaceum (Horn) Brebisson	1,315 - 1,355	14,14
Gyrosigma acuminatum (Kütz) Rabenhorts B	1,410 - 1,430 B	31,93
Navicula cuspidata Kützing	1,465 - 1,475 B	39,66
Navicula oblonga Kützing	1,560 - 1,570 B	52,89
Navicula radiosa Kützing	1,440 - 1,480	24,43
Navicula tripunctata (Müll) Bory	1,450 - 1,460	23,11
Navicula trivialis Lange-Bertalot	1,360 - 1,375	11,53
Nitzschia constricta (Greg.) Grunow	1,315 - 1,325	15,35
Nitzschia dubia W. Smith	1,535 - 1,565	50,25
Nitzschia linearis (Agar) W. Smith	1,395 - 1,430	33,92
Nitzschia sigmoidea (Nitz) W. Smith	1,600 - 1,620 B	57,26
Pinnularia microstauron v. breb. Kützing	1,560 - 1,595	65,14
Pinnularia nobilis Ehrenberg	1,920 B	112,98
Pinnularia viridis (Nitz) Ehrenberg	1,570 - 1,575 B	84,12
Pleurosigma angulatum Quekett	1,570 - 1,585 ■	44,40
Scoliopleura tumida (Breb) Rabenhurts	1,550 - 1,565 B	114,55
Stauroneis phoenicentron (Nitz) Ehrenberg	1,450 - 1,535 B	90,27
Surirella angusta Kützing	1,410 - 1,430	18,87
Tabellaria flocculosa (Roth) Kützing	1,185 - 1,335	25,67
Cyclotella meneghiniana Kützing	1,130 - 1,140	30,24
Melosira varians Agardh	1,610 - 1,620	58,61 (8 cellules)
Stephanodiscus astraea (Ehr) Grunov	1,150 - 1,160	8,33

Tableau IV: Résultats des mesures de densité par genres et par espèces pour les diatomées planctoniques et benthiques vraies (B). D = Densité en ■ cm^{-3} - V = Vitesse moyenne de chute dans l'eau en $\mu\ s^{-1}$.

Source : MNHN, Paris

genre; ainsi, la petite *P. microstauron* v. *brebissonii* a une densité de 1,575 g cm^{-3} et la plus grosse *P. nobilis* atteint 1,920 g cm^{-3}. Pour terminer, si l'on prend les diatomées authentiquement benthiques (B sur Tableau IV) la densité moyenne atteint 1,590 g cm^{-3} avec un écart type de 7,8 % seulement, alors que l'on a 1,135 g cm^{-3} pour les 11 diatomées planctoniques citées par Reynolds (1984) avec un écart type de 6 %, ce qui représente une augmentation de densité de 40 % pour des diatomées benthiques.

DISCUSSION - CONCLUSION

La comparaison avec les travaux antérieurs, quoique peu nombreux, semble montrer une certaine cohérence dans les résultats, bien que cette méthode ne soit pas vraiment applicable aux diatomées planctoniques. En effet, cette méthode doit être réservée pour les diatomées ou autres microalgues dont la masse est suffisante pour produire une vitesse de chute appréciable. Des espèces telles que *Nitzschia acicularis, Achnanthes minutissima*, etc..., ou des espèces très peu silicifiées, ont une vitesse extrêmement lente qui conduit à l'obtention de résultats erronés (Fig. 6). Il est à noter que ce phénomène est normal et ces résultats sont implicites dans l'équation de Stokes. Ainsi, lorsqu'une diatomée de densité 1,050 g cm^{-3} avec un coefficient A = 10 est soumise à des courants de convection lents indécelables, il est impossible de définir le point d'équilibre hydrostatique même si la viscosité du liquide est égale à 1,00 (Fig. 7). Toutefois, malgré cette limitation, la méthode développée ici présente de nombreux

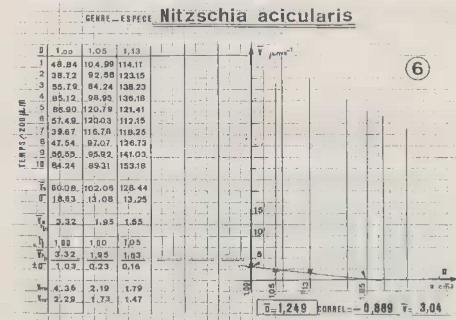


Fig. 6: Droite de régression de *Nitzschia acicularis*. Les vitesses de chute très faibles conduisent à des résultats douteux.

Source : MNHN, Paris

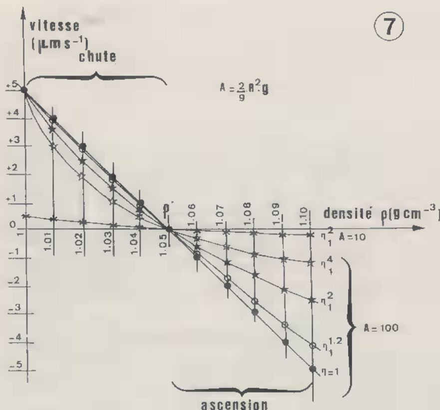
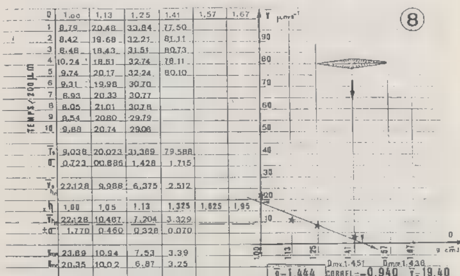


Fig. 7: Variation de la vitesse de chute d'un corps théorique de masse A = 10 et 100 et de densité ρ = 1050 g cm^{-3} en fonction a) de la densité du médium ρ': variation de 1,00 à 1,10 g cm^{-3}, b) de la viscosité η: variation linéaire de 1 à 1,2 - 1 à 2 - 1 à 4.

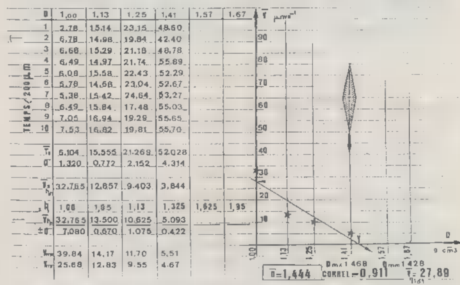
avantages outre ceux décrits en introduction. Ainsi, il a été observé que la position de la diatomée, au cours de la chute, importe peu (Tab. I) tout au moins pour des cellules dont le rapport longueur/largeur est inférieur à 8 ou 10; ceci facilite grandement la mesure de vitesse de chute. Cependant, pour un plus grand rapport, il est souhaitable de relever les temps de chute des diatomées en position horizontale, car alors la vitesse est ralentie et permet une meilleure fiabilité des données. Par ailleurs, et c'est là l'avantage principal, on constate que le coefficient ϕ, si gênant dans le calcul direct de la densité à partir de l'équation de Stokes, est complètement intégré (terme A); il modifie la pente de la droite de régression mais ne change pas les résultats (Fig. 8). La méthode semble particulièrement efficace avec la mesure de densité d'*Asterionella formosa:* à l'aide de 30 cellules unitaires nous obtenons 1,163 g cm^{-3} et avec 30 groupes étoilés de 8 cellules nous relevons 1,171 g cm^{-3}, soit une différence de 0,6 % seulement. Cependant, le point très important du choix des liquides tests doit être abordé même si l'on a la possibilité comme nous l'avons montré d'utiliser n'importe quel liquide pourvu qu'il soit miscible dans l'eau. En effet, on a intérêt à employer un même li-

Source : MNHN, Paris

GENRE_ESPECE **Navicula radiosa**



D	1,00	1,13	1,25	1,41	1,57	1,67
1	8.79	20.48	33.84	77.50		
2	8.42	19.68	32.21	81.11		
3	8.48	18.43	31.51	80.73		
4	10.24	18.61	32.74	78.11		
5	9.74	20.17	32.24	80.10		
6	9.31	19.98	30.70			
7	8.93	20.33	30.77			
8	8.05	21.01	30.78			
9	8.54	20.80	29.79			
10	9.88	20.74	29.08			
$\overline{T}_s$	9.038	20.023	31.369	79.588		
σ	0.723	00.886	1.428	1.715		
$\overline{V}_s$	22.128	9.988	6.375	2.512		
x η	1,00	1,05	1.13	1,325	1,625	1,95
$\overline{V}_{\eta}$	22.128	10.467	7.204	3.329		
±σ	1.770	0.460	0.328	0.070		
V_{mx}	23.89	10.94	7.53	3.39		
V_{mn}	20.35	10.02	6.87	3.25		



D	1,00	1,13	1,25	1,41	1,57	1,67
1	2.78	15.14	23.15	48.60		
2	6,78	14.98	19.84	42.40		
3	6.68	15.29	21.18	48.78		
4	6.49	14.97	21.74	55.89		
5	6.08	15.58	22.43	52.29		
6	5.78	14.68	23.04	52.67		
7	5.38	15.42	24.64	53.27		
8	6.49	15.84	17.48	55.03		
9	7.05	16.94	19.29	55.65		
10	7.53	16.82	19.81	55.70		
$\overline{T}_s$	6.104	15.555	21.269	52.028		
σ	1.320	0.772	2.152	4.314		
$\overline{V}_s$	32.765	12.857	9.403	3.844		
x η	1,00	1,05	1,13	1,325	1,625	1,95
$\overline{V}_{\eta}$	32.765	13.500	10.625	5.093		
±σ	7.080	0.670	1.075	0.422		
V_{mx}	39.84	14.17	11.70	5.51		
V_{mn}	25.68	12.83	9.55	4.67		

Fig. 8: Influence du coefficient φ sur la pente de la droite de régression lors de la chute de la diatomée. Le résultat ne change pas.

Source : MNHN, Paris

quide dilué pour obtenir une série cohérente de liquides tests car, alors, la variation de viscosité est régulière et les erreurs de manipulation, de mesures ou de calculs sont facilement décelables.

Le choix du liquide de base est le problème principal car le liquide qui répondrait aux critères idéaux ne semble pas exister, tout au moins nous ne l'avons pas découvert auprès des laboratoires auxquels nous nous sommes adressés.

Le produit de base devrait avoir les caractéristiques suivantes: liquide, transparent, incolore, miscible dans l'eau sans réaction, densité 2,500 g cm^{-3}, viscosité inférieure à 2,00 Engler, pH 7, osmotiquement neutre, tension de vapeur = 0. En conséquence, après avoir essayé plusieurs produits (Tab. II) nous avons adopté SO_4H_2 pour ses caractéristiques physiques intéressantes: densité élevée, viscosité faible. Préalablement, nous avons vérifié qu'à toutes les dilutions l'acide n'avait pas le temps de pénétrer et d'attaquer les cellules fixées pendant les 15 minutes maximum du temps de mesure. Nous admettons bien volontiers que ce produit n'a pas toutes les qualités souhaitables: il n'est pas neutre, il est délicat à utiliser, il provoque des réactions de surface et les résultats ne peuvent être considérés comme irréprochables. Toutefois, nous avons mis en parallèle le fait que la densité des diatomées pouvait varier, en moyenne, de 13 % au cours de leur cycle vital (Wisman & Reynolds, 1981; Jaworski *et al.*, 1988; Reynolds, 1984, p. 77, tab. 12) et nous avons admis que les écarts constatés (+ 10,3 %) par rapport aux travaux précédents, étaient acceptables et la méthode utilisable avec toutes les réserves citées ci-dessus. D'autre part, par rapport à la méthode des gradients de densité, ou l'on atteint l'équilibre hydrostatique à l'aide de la centrifugation, cette méthode permet d'éviter, dans une certaine mesure, l'incertitude du point d'équilibre, pourvu que l'on relève un nombre suffisant de mesures dans plusieurs densités différentes. Cependant, il serait nécessaire, à titre de contrôle, de pouvoir utiliser les gradients de densité pour les diatomées benthiques, mais ceci suppose de posséder un milieu tel que le "Percoll" ou "Ficoll" ayant une densité de 2,5 g cm^{-3} ce qui, malheureusement, ne semble pas le cas aujourd'hui.

REMERCIEMENTS

L'auteur remercie les lecteurs de la revue qui ont bien voulu corriger le manuscrit et donner d'utiles informations et suggestions. Il remercie particulièrement M. Coste pour son aide dans la recherche bibliographique ainsi que J.C. Druart pour le legs des espèces planctoniques qui ont fait l'objet de comparaison. Merci également à ma fille Catherine pour le travail ingrat de secrétariat.

BIBLIOGRAPHIE

CONWAY K. & TRAINOR F.R., 1972 - *Scenedesmus*, morphology and flotation. *J. Phycol.* 8: 138-143.

EINSELE W. & GRIM J., 1938 - Über den Kieselsaüregelalt planktischer Diatomeen und dessen Bedeutung für einige Frage ihrer Ökologie. *Z. Bot.* 32: 545 - 590.

HUTCHINSON G.E., 1967 - *A Treatise on Limnology, Vol. 2 Introduction to Lake Biology and the limnoplankton.* New York, Wiley.

JAWORSKI G.H.M., WISEMAN S.W. & REYNOLDS C.S., 1988 - Variability in sinking rate of the freshwater diatom *Asterionella formosa:* the influence of the colony morphology. *Brit. Phycol.* 23: 167-176.

KRAMMER K. & LANGE-BERTALOT H., 1986 - *Süsswasserflora von Mitteleuropa.* Bd. 2/1: *Bacillariophyceae*, 1 Teil: *Naviculaceae.* Stuttgart, Gustav Fisher Verlag, 876 p.

Source : MNHN, Paris

KRAMMER K & LANGE-BERTALOT H., 1988 - Idem. Bd. 2/2: *Bacillariophyceae*, 2 Teil: *Bacillariaceae, Epithemiaceae, Surirellaceae*. Stuttgart, Gustav Fisher Verlag, 596 p.

KRAMMER K. & LANGE-BERTALOT H., 1991a - Idem. Bd. 2/3: *Bacillariophyceae*, 3 Teil: *Centrales, Fragilariaceae, Eunotiaceae*. Stuttgart, Gustav Fisher Verlag, 576 p.

KRAMMER K. & LANGE-BERTALOT H., 1991b - Idem. Bd. 2/4: *Bacillariophyceae*, 4 Teil: *Achnanthaceae. Kritische Ergähzungen zu Navicula (Lineolatae) und Gomphonema*. Stuttgart, Gustav Fisher Verlag. 437 p.

OLIVER R.K., KINNEAR A.J. & GANF G.G., 1981 - Measurements of cell density of three freshwater phytoplankters by density gradient centrifugation. *Limnology and Oceanography* 26: 285-294.

REYNOLDS C.S., 1984 - *The ecology of freshwater phytoplankton*. Cambridge University Press. 374 p.

SMAYDA T.J. & BOLEYN B.J., 1965 - Experimental observations and flotation of marine diatoms. 1: *Thalassiosira cf. nana, Thalassiosira rotula* and *Nitzschia seriata Limnol. Oceanogr.* 10: 499-509.

SMAYDA T.J. & BOLEYN B.J., 1966a - Idem. 2. *Skeletonema costatum* and *Rhizosolenia setigera* Ibid. 11: 18-34.

SMAYDA T.J. & BOLEYN B.J., 1966a - Idem. 3. *Bacteriastrum hyalinum* and *Chaetoceros lauderii*. Ibid. 11: 35-43.

SMAYDA T.J., 1970 - The suspension and sinking of phytoplankton in the sea. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.* 8: 353-414.

WALSBY A.E. & XYPOLYTA A., 1977 - The form resistance of chitan fibres attached to the cells of *Thalassiosira fluviatilis* Hustedt. *Brit. Phycol. J.* 12: 215-223.

WALSBY A.E. & REYNOLDS C.S., 1980 - Sinking and floating. *In* MORRIS I. (ed.), *Physiological ecology of phytoplankton*, Blackwell Publ., pp. 371-412.

WISEMAN S.W. & REYNOLDS C.S., 1981 - Sinking rate and electrophoretic mobility of the freshwater diatom *Asterionella formosa*: an experimental investigation. *Brit. Phycol. J.* 16: 357-361.

Source : MNHN, Paris